

CIRCULAR TÉCNICA

210

Pelotas, RS  
Novembro, 2020

# Eficiência Agronômica de Bactérias Endofíticas Diazotróficas para a Fixação de Nitrogênio e Promoção do Crescimento de Arroz Irrigado Cultivado em Terras Baixas

Maria Laura Turino Mattos  
Walkyria Bueno Scivittaro  
Ricardo Alexandre Valgas  
Itamar Soares de Melo  
Mariangela Hungria

OBJETIVOS DE  
DESENVOLVIMENTO  
SUSTENTÁVEL



# Eficiência Agronômica de Bactérias Endofíticas Diazotróficas para a Fixação de Nitrogênio e Promoção do Crescimento de Arroz Irrigado Cultivado em Terras Baixas<sup>1</sup>

No Brasil, a orizicultura irrigada por inundação é cultivada em 1,3 milhões de hectares de terras baixas, produzindo anualmente  $\pm 12$  milhões de toneladas do cereal. O arroz irrigado por inundação, concentrado no Sul do Brasil, fornece  $\pm 70\%$  da produção nacional. Na região Sul, um dos desafios é aumentar a rentabilidade e a qualidade do arroz irrigado, bem como reduzir riscos de contaminação ambiental em decorrência do elevado uso de insumos químicos, principalmente agrotóxicos e fertilizantes químicos minerais.

No estado do Rio Grande do Sul (RS), historicamente, cultivava-se arroz irrigado por inundação em aproximadamente 1 milhão de hectares, alcançando-se produtividade superior a 8 toneladas por hectare [936.316 ha, média de 8.402 kg ha<sup>-1</sup>, na safra 2019/2020 (Iriga, 2020)], fruto da tecnificação da lavoura, das condições ambientais propícias e da experiência dos orizicultores.

Na orizicultura irrigada por inundação, a aplicação de fertilizantes químicos nitrogenados (FQN) é essencial para o atingimento de altas produtividades. A resposta do arroz irrigado à adubação nitrogenada depende da interação de vários fatores, quais sejam: suprimento de nitrogênio e de outros nutrientes do solo; tipo de planta, época e densidade de semeadura; controle de plantas daninhas; estado fitossanitário: sequência de culturas; fontes, doses e época de aplicação do fertilizante nitrogenado; e condições climáticas, particularmente temperatura e radiação solar (Scivittaro; Machado, 2004).

Ressalta-se, porém, a grande variabilidade nos resultados inerentes à eficiência agronômica, raramente excedendo 50% da dose aplicada, o que limita a produtividade e onera o custo de produção (Scivittaro; Gomes, 2006). Relatos anteriores, de Fageria e Baligar (2001), já destacavam que a eficiência de recuperação de N pelo arroz inundado situa-se em torno de 40%, em solo de várzea. Scivittaro et al. (2010) verificaram perdas de N por volatilização de amônia decorrentes do uso de ureia de 15% (solo saturado) a 22% (solo úmido) do nitrogênio aplicado, quando o intervalo entre a aplicação desse fertilizante e o início da irrigação foi de dez dias.

Nesse contexto, o uso racional da adubação nitrogenada mineral é fundamental, não somente para aumentar a eficiência de recuperação, mas também para aumentar a produtividade das culturas e diminuir o custo de produção e os riscos de contaminação ambiental.

Ademais, o aumento do custo desses fertilizantes no mercado mundial e a lacuna entre o fornecimento e a demanda constituem dificuldades, somadas à possibilidade de perdas gasosas (N<sub>2</sub>O), por lixiviação e por escoamento superficial. Além disso, há outros problemas associados ao uso de N, principalmente quando doses elevadas são aplicadas na fase inicial da cultura, promovendo o crescimento excessivo das plantas, causando autossombreamento das folhas e aumentando a suscetibilidade a doenças fúngicas, principalmente à brusone. Mais tarde, pode ainda causar o acamamento das plantas, dificultando a colheita e, por consequência, reduzir a produtividade e a qualidade dos grãos.

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é uma das alternativas tecnológicas para a redução do uso de FQN nessa cultura e insere-se no Programa Agricultura de Baixo Carbono do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa).

Diante da evidência de que bactérias endofíticas diazotróficas podem apresentar potencial de 20-30% de aumento na produção de arroz (Baldani et al., 2000) e que interagem positivamente com genótipos de arroz irrigado em terras baixas (TB) (Fagundes et al., 2011; Mattos et al., 2012; 2015), torna-se necessário definir

<sup>1</sup> Engenheira-agrônoma, doutora em Ciência do Solo, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS; Engenheira-agrônoma, doutora em Ciências, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS; Estatístico, mestre em Métodos Numéricos em Engenharia, pesquisador da Embrapa Clima Temperado; Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariuna, SP; Engenheira-agrônoma, doutora em Ciência do Solo, pesquisadora da Embrapa Soja, Londrina, PR.



a eficácia de doses de nitrogênio para complementação do benefício da fixação biológica de nitrogênio. Além disso, existem estirpes (*Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6) que beneficiam o acúmulo de N e promovem o crescimento de gramíneas (Hungria, 2011), especialmente em genótipos de *Brachiaria* spp., com aumento de acumulação de nitrogênio na biomassa, equivalente a uma aplicação de 40 kg de N-fertilizante ha<sup>-1</sup> (Hungria et al, 2016).

Diversos estudos têm sido realizados visando avaliar a contribuição da FBN à cultura de arroz, com o objetivo de selecionar estirpes de bactérias e quantificar a FBN em genótipos de arroz (Baldani et al., 2000; Sabino et al., 2000; Campos et al., 2003; Rodrigues et al., 2006; Guimarães et al., 2010). Porém, esses estudos envolveram somente genótipos de arroz para o cultivo de arroz de sequeiro, em condições edafoclimáticas distintas das terras baixas, onde predominam os solos hidromórficos com drenagem natural deficiente e clima subtropical, e onde há influência dos fenômenos climáticos El Niño e La Niña (Steinmetz et al., 2004). Além disso, o sistema de cultivo do arroz predominante é o cultivo mínimo, em que a semeadura é realizada em solo seco e, posteriormente, a irrigação da lavoura por submersão do solo inicia-se alguns dias após a emergência das plantas (Reunião, 2018).

Nesse contexto, bactérias endofíticas diazotróficas associativas foram isoladas de folhas, colmos e raízes da cultivar de arroz irrigado BRS-7 Taim, cultivada nas terras baixas do Rio Grande do Sul. Estirpes diazotróficas apresentaram a habilidade de crescer em meio seletivo NFb (Novo Fábio Pedrosa) (Mattos et al., 2010). Em outro estudo, foram obtidas 19 bactérias endofíticas diazotróficas de colmos da cultivar de arroz irrigado BRS Pelota (Mattos et al., 2010). Além disso, populações de bactérias diazotróficas também foram encontradas em número significativo em colmos das cultivares de arroz irrigado EEA-406 e IRGA 419, sendo importante determinar a real contribuição dessas à cultura quanto ao fornecimento de nitrogênio (Silva et al., 2007).

Sen (1992) sugere que bactérias heterotróficas associadas com o sistema radicular de plantas de arroz podem contribuir eficientemente para a fixação de nitrogênio. Barraquio et al. (1997) destacam ainda que bactérias endofíticas diazotróficas podem persistir de forma agressiva e estável, e fixar nitrogênio no interior de tecidos e colmos de arroz. Khan et al. (2008) identificaram bactérias isoladas do solo da rizosfera de plântulas de arroz, espécies de *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Bacillus* spp., com capacidade de fixar nitrogênio. Diferentes gêneros de bactérias promotoras de crescimento de plantas, incluindo *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Acetobacter*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas* spp., são frequentemente usados como modelos de bactérias que colonizam raízes (Saharan; Nehra, 2011).

A fixação do nitrogênio por diazotróficos endofíticos tem sido raramente comprovada. Alega-se que esses microrganismos têm uma vantagem sobre os diazotróficos associativos de raízes, uma vez que ocupam espaços mais estritamente ligados ao hospedeiro e, portanto, com maior acesso às fontes de carbono. Além disso, colonizam nichos protegidos do oxigênio, o qual é necessário à expressão e atividade da nitrogenase (Dobbelaere et al., 2003). Mattos et al. (2008) verificaram que *Burkholderia kururiensis*, bactéria diazotrófica, demonstra habilidade de colonizar endofiticamente plântulas de arroz, predominando sua colonização na zona pilífera da raiz, iniciando na endoderme, espalhando-se pelo xilema e alcançando as partes aéreas, mostrando-se diretamente associada ao aumento no desenvolvimento da planta e a produção de grãos de arroz. Espécies de bactérias endofíticas (*Penibacillus*, *Microbacterium*, *Bacillus* e *Klebsiella*), isoladas de folhas, colmos e raízes de arroz, foram identificadas como diazotróficas, pela confirmação da presença dos genes nifH. Promoveram o crescimento das plantas (PCP), aumentando a altura e a massa seca, e efeitos antagonistas contra fungos fitopatogênicos, demonstrando habilidade para produção de auxinas e sideróforos e atividade de solubilização de fosfato, mecanismos de PCP (Jia et al., 2014).

É importante considerar a existência da variabilidade genética, tanto nos genótipos de arroz como nas bactérias com capacidade para FBN, e compreender os mecanismos envolvidos na interação planta/bactéria/ambiente, como características para sua seleção, visando à formulação de inoculantes. Assim, a seleção de bactérias endofíticas diazotróficas com potencial para FBN e a interação com as cultivares de arroz irrigado BRS Pampa, BRS Pampa CL e BRS Pampeira da Embrapa, recomendadas para o cultivo em terras baixas do Rio Grande do Sul, constituem-se em estudos básicos necessários à inovação da pesquisa em prol da

sustentabilidade da orizicultura e, consequentemente, à inserção de produtores no Programa de Agricultura de Baixo Carbono (ABC).

Neste trabalho, avalia-se a eficiência agronômica de novas bactérias endofíticas diazotróficas para a fixação de nitrogênio e promoção do crescimento da cultura do arroz irrigado, nas condições edafoclimáticas de terras baixas, no Rio Grande do Sul.

## MATERIAL E MÉTODOS

Nas safras agrícolas 2015/2016, 2017/2018, 2018/2019 e 2019/2020, foram conduzidos experimentos sob condições de campo, na Estação Experimental Terras Baixas (ETB) da Embrapa Clima Temperado (Latitude: 31° 52' 00" S; Longitude: 52° 21' 24"), no município de Capão do Leão, RS, em solo classificado como Planossolo Háplico. O clima local é classificado como subtropical (Cfa - Köppen) (Wrege et al., 2012), apresentando precipitação e temperatura média anual de 1.367 mm e 17,8 °C, respectivamente (Estação..., 2017).

A avaliação da fertilidade do solo foi realizada em cada safra, anteriormente à implantação dos experimentos, coletando-se amostras da área experimental, na profundidade de 0-20 cm. As análises químicas foram realizadas em laboratório com certificado de qualidade da Rede Oficial de Laboratórios de Análise de Solo e de Tecido Vegetal dos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina (ROLAS). Na Tabela 3 constam os resultados das análises químicas do solo da área experimental da ETB, em cada safra agrícola.

Os resultados das análises químicas do solo revelaram que as áreas utilizadas nas quatro safras apresentavam teores baixo de matéria orgânica, muito baixo de fósforo disponível e médio de potássio extraível (K) (Sociedade..., 2016). A partir dos resultados da análise química do solo e considerando-se uma expectativa alta de resposta da cultura do arroz à adubação (Reunião..., 2018), estabeleceram-se as adubações fosfatada e potássica. Também foi estimada a abundância natural de microrganismos diazotróficos no solo pelo método do número mais provável (NMP) em meio de cultura NFb semissólido (Döbereiner et al., 1976), de acordo com metodologia preconizada pela Instrução Normativa DAS/MAPA 30/2010, de 12/11/2010, publicada no D.O.U. de 17/11/2010.

**Tabela 3.** Atributos químicos e físicos do Planossolo Háplico (0-20 cm) na área experimental da Estação Experimental Terras Baixas, Capão do Leão, RS. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2020.

Safra	pH	Al	H+Al	SB	Ca	Mg	K	Na	K	P	M.O.	CTC efetiva	Argila
	água (1:1)				cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>				mg/dm <sup>3</sup>		%		%
2015/2016	5,5	0,4	3,6	48	1,9	0,9	0,1	30	28	2,8	0,9	3,1	18
2017/2018	5,7	0,0	2,0	72	2,9	1,9	0,1	36	45	6,0	1,4	5,2	21
2018/2019	5,7	0,1	2,0	73	2,5	1,8	0,1	37	54	17	1,2	9,0	18
2019/2020	5,7	0,1	2,1	74	4,4	2,5	0,1	39	50	16	1,2	9,8	17

Os tratamentos foram dispostos em delineamento de blocos ao acaso com quatro repetições. As unidades experimentais (8 m<sup>2</sup>) apresentaram dimensões de 1,58 m x 5,0 m, com nove linhas e espaçamento entre linhas de 17,5 cm, sendo individualizadas por taipas (Figura 1). A área de colheita foi de 4,90 m<sup>2</sup>. A densidade de semeadura foi de 90 kg ha<sup>-1</sup> de sementes, sendo utilizada a cultivar BRS Pampa, de ciclo precoce, cerca de 118 dias da emergência à maturação completa dos grãos (Magalhães Junior et al., 2012), com ampla adaptação no RS, sendo implantada, em todas as safras, no sistema de cultivo convencional. A adubação de base consistiu na aplicação das formulações fertilizantes 00-25-25 (tratamento sem inoculação) e 05-25-25 [tratamentos sem inoculação e com N recomendado (20 kg ha<sup>-1</sup> de N na base + 100 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura) e com inoculação e N reduzido (20 kg ha<sup>-1</sup> de N na base + 90 kg ha<sup>-1</sup> de N)] de forma localizada no sulco de plantio.

Foto: Elton Rogério Nolasco Fonseca.



**Figura 1.** Modelo da área estruturada do experimento de fixação biológica de nitrogênio em arroz irrigado. Safra 2017/2018, Estação Experimental Terras Baixas, Capão do Leão, RS.

A adubação nitrogenada foi aplicada em cobertura nos estádios de início de perfilhamento ( $V_3/V_4$ ) e iniciação da panícula ( $R_0$ ). Na primeira cobertura, aplicou-se 60% da dose de N e na segunda os 40% restantes. A primeira cobertura com N foi realizada em solo seco, antes do início da irrigação por inundação do solo, e a segunda sobre uma lâmina de água não circulante. As datas das adubações nitrogenadas em cobertura foram estimadas utilizando-se o método de graus-dia (Steinmetz et al., 2004).

Os tratamentos compreenderam: (1) controle negativo (sem N e sem inoculante); (2) controle positivo com a dose recomendada de N-fertilizante ( $120 \text{ kg de N ha}^{-1}$ , sem inoculante); (3) inoculante 1 (acessos CMM 174 + CMM 175 + CMM 179); (4) inoculante 2 (CMM 176 + CMM 197 + CMM 205); (5) combinação da dose N-fertilizante reduzida ( $90 \text{ kg de N ha}^{-1}$ ) + inoculante 1; (6) combinação da dose N-fertilizante reduzida ( $90 \text{ kg de N ha}^{-1}$ ) + inoculante 2; (7) acesso 174; (8) acesso 175; (9) acesso 179; (10) acesso 197; (11) acesso 205; (12) acesso 176; (13) inoculante comercial [*Azospirillum brasilense* (estirpes Ab-V5 e Ab-V6)]. Os tratamentos dos acessos a serem testados, independentemente, foram inseridos nas avaliações da safra 2019/2020.

Na Tabela 4 são apresentados os dados de origem dos acessos bacterianos, empregados neste trabalho, previamente isolados de cultivares de arroz irrigado cultivadas na ETB e preservados na Coleção de Microrganismos Multifuncionais de Clima Temperado (CMMCT). Os acessos foram identificados nos laboratórios da Embrapa Meio Ambiente e Embrapa Soja: CMM 174 (*Pseudomonas* sp.), CMM 175 (*Bacillus* sp.), CMM 179 (*Bacillus* sp.), CMM 176 (*Bacillus* sp.), CMM 197 (*Aeromicrobium* sp.), CMM 205 (*Rhizobium* sp.). Os inoculantes foram preparados no laboratório de Microbiologia do Solo da Embrapa Clima Temperado.

As bactérias foram crescidas em caldo Dygs (pH  $7,0 \pm 0,1$ , 180 rpm,  $28^\circ\text{C}$ , 24h), sendo a concentração média dos inóculos apresentada na Tabela 5, determinada pela contagem de colônias em placas contendo meio PCA (pH  $7,0 \pm 0,1$ ,  $28^\circ\text{C}$ , 48 horas). Posteriormente, uma alíquota de 15 mL de cada inóculo foi inoculada em 35 g de uma matriz turfosa comercial (esterilizada por raios gama), que foi incubada a  $30^\circ\text{C}$  por cinco dias. A concentração média final do inoculante turfoso foi de  $10^7 - 10^9 \text{ UFC g}^{-1}$  de turfa (Tabela 6). Após, o inoculante turfoso (200 g) foi misturado com um aditivo (composto de açúcares e biopolímeros encapsulados) ( $300 \text{ mL } 50 \text{ kg}^{-1}$  de sementes), e aplicou-se 9 mL da mistura às sementes (1 kg). Na sequência, as sementes foram homogeneizadas até obter uma cobertura uniforme do inoculante turfoso, e colocadas para secar em temperatura ambiente de laboratório ( $22^\circ\text{C}$ ), por 30 minutos. Para o transporte até o campo, acondicionou-se os sacos das sementes em caixas de isopor, mantendo-se na sombra, até o momento da semeadura.

O inoculante comercial utilizado, marca AzoTotal® (formulação líquida), fornecido pela empresa Total Biotecnologia Indústria e Comércio S/A, de Curitiba, PR, contém as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *Azospirillum brasilense* e concentração de  $2,0 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>, sendo que a dose aplicada foi de 150 mL por 50 kg de sementes.

**Tabela 4.** Acessos bacterianos endofíticos isolados de partes da planta de arroz. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2020.

Acesso	Cultivar	Parte da Planta	Bioma
CMM 174	BRS Pelota	Colmo	Pampa
CMM 175	BRS Pelota	Colmo	Pampa
CMM 176	BRS Pelota	Colmo	Pampa
CMM 179	BRS Pelota	Colmo	Pampa
CMM 197	BRS Taim	Colmo	Pampa
CMM 205	BRS Taim	Folha	Pampa

**Tabela 5.** Concentrações dos inóculos dos consórcios e dos acessos. Médias de quatro safras agrícolas. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2020.

Acessos	Concentração
	UFC mL <sup>-1</sup>
Consórcio 1	$2,4 \times 10^9$
CMM 174	$4,0 \times 10^8$
CMM175	$3,3 \times 10^8$
CMM 179	$7,4 \times 10^8$
Consórcio 2	$5,1 \times 10^8$
CMM197	$4,3 \times 10^8$
CMM 205	$1,1 \times 10^8$
CMM 176	$3,9 \times 10^8$
C.V. (%)	<10

**Tabela 6.** Concentrações dos inoculantes turfosos com acessos consorciados e independentes. Médias de quatro safras agrícolas. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2020.

Acessos	Concentração
	UFC g <sup>-1</sup>
Consórcio 1	$3,3 \times 10^8$
CMM 174	$1,2 \times 10^9$
CMM175	$3,0 \times 10^9$
CMM 179	$3,7 \times 10^8$
Consórcio 2	$1,2 \times 10^9$
CMM197	$3,6 \times 10^8$
CMM 205	$8,1 \times 10^7$
CMM 176	$3,5 \times 10^8$
C.V. (%)	<10

A cada safra, os tratamentos foram avaliados pela determinação da massa de grãos. Essa variável foi medida na maturação de colheita, estágio R9 (Counce et al., 2000). Para a produtividade de grãos do arroz, considerou-se uma parcela útil, constituída por sete linhas de plantas com 4 m de comprimento. Os dados de produtividade dos grãos foram corrigidos para 13% de umidade.

As variáveis relacionadas à fixação de nitrogênio pelos acessos bacterianos foram avaliadas nas safras 2015/2016 e 2017/2018, medidas pelas seguintes determinações: quantidade de N acumulado na parte aérea das plantas de arroz (colmos + folhas) e nível de N exportado pelos grãos em amostras colhidas da área de produção (4,90 m<sup>2</sup>). O índice relativo de clorofila (IRC) foi obtido pela leitura do aparelho portátil clorofilômetro (modelo SPAD-502), mediante leitura na posição intermediária da folha, considerando-se a última folha completamente expandida, em 10 plantas por unidade experimental, no estágio de floração (R4).

Os resultados obtidos foram submetidos inicialmente ao teste de normalidade das variáveis e homogeneidade das variâncias. Em seguida, à análise de variância (Anova) com 95% de confiança. Quando o valor de F foi significativo, procedeu-se à comparação das médias pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Quando um dos pressupostos não foi atendido, a Anova foi substituída pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Foi utilizado o software estatístico R (R Core Team, 2015).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A estimativa média da abundância natural de microrganismos diazotróficos no solo foi de  $2,0 \times 10^4$  UFC g<sup>-1</sup> solo, na primeira safra, enquanto, após três safras agrícolas, houve o enriquecimento do solo com uma população de  $1,8 \times 10^6$  UFC g<sup>-1</sup> solo (Tabela 7). Dessa forma, comprova-se os benefícios da inoculação das sementes de arroz com microrganismos diazotróficos e promotores de crescimento para a melhoria da comunidade bacteriana do solo no sistema de produção arroz em terras baixas.

**Tabela 7.** População de microrganismos diazotróficos do solo da área experimental. Safras Agrícolas 2015/2016, 2017/2018, 2018/2019, 2019/2020. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2020.

Safras agrícolas	Concentração (UFC g <sup>-1</sup> solo)
2015/2016	$2,0 \times 10^4$
2017/2018	$2,8 \times 10^4$
2018/2019	$2,0 \times 10^7$
2019/2020	$1,8 \times 10^6$
C.V. (%)	< 10

Na Tabela 8, estão apresentados os valores médios de produtividade de quatro safras agrícolas. Os dados mostram efeitos significativos dos tratamentos com o uso do inoculantes contendo os acessos bacterianos sobre a produtividade do arroz. O inoculante 1, contendo os acessos CMM 174 (*Pseudomonas* sp.), CMM 175 (*Bacillus* sp.), CMM 179 (*Bacillus* sp.), com adubação nitrogenada combinada (90 kg ha<sup>-1</sup>), proporcionou produtividade média ao longo de quatro safras agrícolas (10.585 kg ha<sup>-1</sup>) somente 6% inferior ao tratamento com adubação nitrogenada recomendada (120 kg ha<sup>-1</sup>) (11.204 kg ha<sup>-1</sup>). O inoculante 2, contendo os acessos CMM 179 (*Bacillus* sp.) + CMM 176 (*Bacillus* sp.), CMM 197 (*Aeromicrobium* sp.) + CMM 205 (*Rhizobium* sp.), com adubação nitrogenada (90 kg ha<sup>-1</sup>), apresentou produtividade média significativa ao longo das quatro safras agrícolas (11.405 kg ha<sup>-1</sup>), equiparando-se ao tratamento com uso da adubação recomendada para o arroz (11.204 kg ha<sup>-1</sup>). Na ausência da adubação nitrogenada, os consórcios apresentaram produtividades ,mas com diferenças significativas entre os dois inoculantes, sendo que o desempenho superior (13,5%) foi com a combinação de *Bacillus* sp. + *Aeromicrobium* sp. + *Rhizobium* sp. (inoculante 2). Porém, na safra 2017/2018,



ambos os consórcios (inoculantes 1 e 2) aportaram benefícios para as plantas de arroz, pois a produtividade média foi de 10.609 kg ha<sup>-1</sup>. Na presença de *Azospirillum brasilense*, o efeito sobre a produtividade não diferiu do inoculante 1 e do controle negativo (ausência de N e inoculante), apresentando comportamento semelhante nas safras seguintes.

**Tabela 8.** Produtividade de grãos de arroz (kg ha<sup>-1</sup>) em função da inoculação com os consórcios bacterianos. Médias das quatro safras agrícolas. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2020.

Tratamentos	Safras agrícolas			
	2015/2016	2017/2018	2018/2019	2019/2020
Sem N e inoculante	8.109 d	9.413 b	7.357 c	6.278 d
Com 120N	13.112 a	12.479 a	10.066 a	9.162 b
Consórcio 1	7.194 d	10.675 b	7.702 c	8.055 c
Consórcio 2	9.745 c	10.544 b	8.300 b	9.607 a
Consórcio 1 + 90N	12.565 b	11.032 b	8.772 b	9.974 a
Consórcio 2 + 90N	13.095 a	12.103 a	9.685 a	10.738 a
A. brasilense	8.926 d	8.650 b	7.092 c	8.852 b
C.V. (%)	<20			

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Na Tabela 9, constam os valores médios obtidos para produção de massa seca da parte aérea (folhas + colmos), os quais não apresentaram variação significativa em relação aos tratamentos nas safras 2017/2018, 2018/2019 e 2019/2020, exceto na safra 2015/2016. Nessa safra, houve diferença significativa entre os tratamentos, destacando-se a combinação dos acessos com adubação nitrogenada, que apresentaram produção de matéria seca comparável à adubação nitrogenada na dose recomendada para a cultura (120 kg ha<sup>-1</sup>). Maior incremento de massa de matéria seca da parte aérea é indicativo de maior taxa fotossintética, corroborando com o exposto em Takay et al. (2010), segundo os quais maiores doses de N propiciam maiores números de cloroplastos por unidade de área foliar. Para essa variável, os resultados demonstram a importância do nitrogênio, adicionado e/ou fixado por bactérias associativas, para acumulação de matéria seca nas plantas de arroz.

**Tabela 9.** Massa seca da parte aérea das plantas de arroz (kg ha<sup>-1</sup>) em função da inoculação com os consórcios e acessos. Médias das quatro safras agrícolas. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2020.

Tratamentos	Safras agrícolas			
	2015/2016	2017/2018	2018/2019	2019/2020
Sem N e inoculante	7.593 c	4.580 a	13.290 a	6.475
Com 120N	10.620 a	7.710 a	13.450a	8.950 a
Consórcio 1	8.230b	6.550 a	14.001 a	6.750
Consórcio 2	7.701 c	6.890 a	11.710 a	8.225 a
Consórcio 1 + 90N	10.060 a	7.480 a	13.570 a	8.725 a
Consórcio 2 + 90N	10.176 a	7.920 a	13.630 a	8.400 a
A. brasilense	9.209 b	7.700 a	13.110 a	7.880 a
C.V. (%)	7,5	20	20	20

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.



Os resultados de massa seca de panículas não diferiram significativamente em todas as safras agrícolas (Tabela 10). Dessa forma, não houve efeito diferenciado do uso de inoculantes bacterianos, quando comparado com a adubação nitrogenada mineral recomendada para o arroz irrigado, verificando-se massas elevadas em todas as safras agrícolas. Quanto ao número de panículas, houve efeito significativo entre os tratamentos nas safras 2017/2018 e 2018/2019, sendo que, nas demais safras (2015/2016 e 2019/2020), os tratamentos não diferiram, mas verificou-se valores elevados para essa variável. O uso dos inoculantes, contendo os acessos consorciados ou independentes e/ou combinados com adubação nitrogenada, equiparou-se, para a variável número de panículas, ao inoculante comercial contendo *Azospirillum brasilense*. O desempenho superior para essa variável (601 panículas por m<sup>2</sup>) foi obtido com a combinação dos acessos *Bacillus* sp. + *Aeromicrobium* sp. + *Rhizobium* sp. (inoculante 2) com adubação nitrogenada reduzida. É importante salientar que o número de panículas está diretamente relacionado à fase de crescimento vegetativo, e é determinado pelo número de perfilhos das plantas, sendo que a densidade de semeadura e a adubação nitrogenada são os principais fatores que influenciam esse componente.

**Tabela 10.** Massa seca de panículas de plantas de arroz (kg ha<sup>-1</sup>) em função da inoculação com os consórcios e acessos. Médias das quatro safras agrícolas. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2020.

Tratamentos	Safras agrícolas			
	2015/2016	2017/2018	2018/2019	2019/2020
Sem N e inoculante	13.450 a	8.290 a	8.900 a	7.375 a
Com 120N	15.800 a	12.430 a	13.450 a	9.100 a
Consórcio 1	10.100 a	9.450 a	8.000 a	8.000 a
Consórcio 2	13.876 a	9.980 a	8.600 a	10.800 a
Consórcio 1 + 90N	15.920 a	10.010 a	9.400 a	10.600 a
Consórcio 2 + 90N	15.970 a	10.720 a	9.700 a	9.325 a
A. <i>brasilense</i>	13.200 a	8.450 a	8.250 a	8.300 a
C.V (%)	16	20	20	19

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

**Tabela 11.** Número de panículas de plantas de arroz (m<sup>2</sup>) em função da inoculação com os consórcios e acessos. Médias das quatro safras agrícolas. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2020.

Tratamentos	Safras agrícolas			
	2015/2016	2017/2018	2018/2019	2019/2020
Sem N e inoculante	537 a	324 b	403 b	440 a
Com 120N	577 a	453 a	512 a	492 a
Consórcio 1	574 a	430 a	456 b	394 a
Consórcio 2	540 a	440 a	443 b	510 a
Consórcio 1 + 90N	580 a	403 b	463 b	487 a
Consórcio 2 + 90N	601 a	480 a	464 b	465 a
A. <i>brasilense</i>	531 a	436 a	440 b	452 a
C.V. (%)	12	18	17	18

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Na Tabela 12, são apresentados os valores médios de nitrogênio acumulado na massa seca da parte aérea (MSPA) e exportado pelos grãos, e índice relativo de clorofila, obtidos na safra 2015/2016. Quanto ao N na MSPA, não houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo uniforme a contribuição dos inoculantes 1 e 2 e do *Azospirillum brasilense* para o acúmulo nas plantas de cerca de 0,48% de N. Quanto ao índice

relativo de clorofila (IRC), houve destaque significativo para as bactérias do inoculante 1 (*Pseudomonas* sp. + *Bacillus* sp. + *Bacillus* sp.) combinadas com adubação nitrogenada reduzida (90 kg ha<sup>-1</sup>), as quais promoveram aumento no IRC de 42% em comparação com o tratamento com adubação nitrogenada com a dose recomenda (120 kg ha<sup>-1</sup>). Da mesma forma, bactérias do inoculante 2 (*Bacillus* sp. + *Aeromicrobium* sp. + *Rhizobium* sp.), combinadas com adubação nitrogenada reduzida, promoveram incremento de 30% no IRC, quando comparado com o controle positivo (120 kg ha<sup>-1</sup> de N). Esse comportamento demonstra o suficiente estado nutricional das plantas com N-fertilizante reduzido, combinado com os inoculantes turfosos constituídos com os consórcios que contêm bactérias diazotróficas e promotoras de crescimento.

O N exportado pelos grãos foi influenciado pela interação entre as bactérias consorciadas e combinadas com adubação nitrogenada reduzida (Tabela 12). Para essa variável, os inoculantes 1 e 2, combinados com N-fertilizante reduzido, assim como somente o inoculante 2, proporcionaram exportação de N pelos grãos equivalente ao controle positivo (120 kg ha<sup>-1</sup> de N). O fato das bactérias do inoculante 2 promoverem acúmulo de N nos grãos, com e sem adição de N-fertilizante, reforçam a contribuição desses acessos endofíticos (*Bacillus* sp. + *Aeromicrobium* sp. + *Rhizobium* sp.) para a fixação de nitrogênio em arroz irrigado. O comportamento do inoculante 1 (*Pseudomonas* sp. + *Bacillus* sp. + *Bacillus* sp.) foi semelhante ao inoculante comercial (*Azospirillum brasilense*), no acúmulo de N nos grãos.

**Tabela 12.** Nitrogênio acumulado na massa seca da parte aérea (N MSPA) e exportado pelos grãos (N Grãos), e índice relativo de clorofila (IRC), em função da inoculação com os consórcios bacterianos. Safra agrícola 2015/2016, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

Tratamentos	N MSPA (%)	IRC	N Grãos (%)
Sem N e inoculante	0,52 a	45,0 b	0,69 b
Com 120N	0,52 a	50,2 ab	0,82 ab
Consórcio 1	0,48 a	50,4 ab	0,69 b
Consórcio 2	0,47 a	50,0 ab	0,80 ab
Consórcio 1 + 90N	0,51 a	71,5 a	0,75 ab
Consórcio 2 + 90N	0,47 a	65,4 ab	0,82 ab
A. <i>brasilense</i>	0,47 a	48,4 b	0,69 b
CV (%)	4,0	2,0	3,0

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Na Tabela 13, constam os valores médios de nitrogênio acumulado na massa seca da parte aérea (MSPA) e exportado pelos grãos, e índice relativo de clorofila, obtidos na safra 2017/2018. Os resultados dessas variáveis não diferiram entre os tratamentos, verificando-se que os valores de IRC foram menores do que os valores da safra 2015/2016. Porém, como ocorreu na safra 2015/2016, o inoculante 2, combinado com adubação nitrogenada reduzida, proporcionou a maior quantidade de N acumulado nos grãos.

**Tabela 13.** Nitrogênio acumulado na massa seca da parte aérea e exportado pelos grãos, e índice relativo de clorofila (IRC), em função da inoculação com os consórcios bacterianos. Safra agrícola 2017/2018, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

Tratamentos	N MSPA (%)	IRC	N Grãos (%)
Sem N e inoculante	0,62 a	44,8 a	0,92 a
Com 120N	0,62 a	40,8 a	0,98 a
Consórcio 1	0,58 a	40,7 a	0,94 a
Consórcio 2	0,61 a	41,0 a	0,96 a
Consórcio 1 + 90N	0,59 a	41,5 a	0,98 a
Consórcio 2 + 90N	0,62 a	41,6 a	1,00 a
A. <i>brasilense</i>	0,65 a	42,5 a	0,97 a
CV (%)	10	9,4	7,6

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Para os componentes de produção dos acessos independentes, avaliados na safra 2019/2020 (Tabela 14), verificou-se efeito significativo do acesso 175 (*Bacillus* sp.) sobre a produtividade, quando comparado com os demais tratamentos, que não apresentaram diferença significativa. Esse *Bacillus* sp. (acesso 175) sobressaiu-se também nos valores de massa seca da parte aérea e das panículas, com contribuição intermediária no número de panículas e IRC. O maior valor de IRC foi verificado com a contribuição do acesso 205 (*Aeromicrobium* sp.). Da mesma forma, o acesso 179 (*Bacillus* sp.) sobressaiu-se na massa de panículas, demonstrando a funcionalidade do gênero *Bacillus* para aumentar o desempenho produtivo do arroz irrigado.

**Tabela 14.** Valores de produtividade de grãos de arroz ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), massa seca da parte aérea (MSPA) ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), massa seca de panículas (MSP) ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) e número de panículas ( $\text{m}^2$ ) e índice relativo de clorofila (IRC) em função da inoculação com os acessos bacterianos. Safra agrícola 2019/2020, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2020.

Tratamentos	Produtividade	MSPA	MSP	Nº Panículas	IRC
Acesso 174	8.724 b	6.075 a	7.900 a	355 a	42,8 a
Acesso 175	9.865 a	8.750 a	9.300 a	452 a	42,2 a
Acesso 179	9.007 b	7.475 a	10.050 a	464 a	41,4 a
Acesso 197	9.215 b	7.025 a	8.700 a	407 a	40,0 a
Acesso 205	9.054 b	6.975 a	9.000 a	438 a	44,0 a
Acesso 176	8.687 b	6.000 a	7.575 a	394 a	40,2 a
C.V. (%)	7,6	20,8	19,5	18	19

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A formulação de um inoculante turfoso, composto pelos acessos bacterianos 197 (*Bacillus* sp.) + 205 (*Aeromicrobium* sp.) + 176 (*Rhizobium* sp.), combinados com adubação nitrogenada mineral reduzida [ $90 \text{ kg ha}^{-1}$  de N (aplicado em cobertura)], demonstra eficiência agronômica quanto à produtividade de grãos da cultivar BRS Pampa.
- Há resposta dos consórcios *Pseudomonas* sp. + *Bacillus* sp. + *Bacillus* sp. e *Bacillus* sp. + *Aeromicrobium* sp. + *Rhizobium* sp. no maior acúmulo de N nos grãos de arroz como efeito da fixação de nitrogênio.
- Espécies do gênero *Bacillus*, endofíticas e associativas, contribuem para o melhor desempenho agronômico e produtivo do arroz irrigado.

## AGRADECIMENTOS

Aos funcionários dos laboratórios de Fertilidade e Microbiologia do Solo e do campo experimental da Estação Terras Baixas.

## REFERÊNCIAS

- BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Inoculation of rice plants with the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 30, p. 485-491, 2000.
- BARRAQUIO, W. L.; REVILLA, L.; LADHA, J. K. Isolation of endophytic diazotrophic bacteria from wetland rice. **Plant and Soil**, v. 194, n. 1/2, p. 15-24, 1997. Disponível em: [www.jstor.org/stable/42948104](http://www.jstor.org/stable/42948104). Acesso em: 23 Sept. 2020.
- CAMPOS, D. V. B de; ALEXANDER, S. R.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio para a cultura de arroz sob inundação. **Agronomia**, v. 37, n. 2, p. 41-46, 2003.
- COUNCE, P. A.; KEISLING, T. C.; MITCHELL, A. J. A. A uniform, objective, and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 436-443, 2000.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Science**, v. 22, p. 107-149, 2003.

DÖBEREINER, J.; DAY, J. M. Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In: NEWTON, W. E.; NYMAN, C. T. (Ed.). *International Symposium on Nitrogen Fixation. Proceedings...* Pullman, USA: Washington State University Press, 1976. p. 518-538.

ESTAÇÃO AGROCLIMATOLÓGICA DE PELOTAS (Capão do Leão). Normais climatológicas - mensal/anoal. Pelotas: Embrapa Clima Temperado; UFPel, 2017. Disponível em: <http://agromet.cpact.embrapa.br/estacao/mensal.html>. Acesso em: 18 fev. 2020.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Lowland rice response the nitrogen fertilization **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 32, p. 1405-1429, 2001.

FAGUNDES, P. R. R.; MATTOS, M. L. T.; MAGALHÃES JÚNIOR, A. M. de **Genótipos de arroz irrigado responsivos à fixação biológica de nitrogênio**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2011. 7 p. (Embrapa Clima Temperado. Circular Técnica, 136).

GUIMARÃES, S. L.; CAMPOS, D. T. S.; BALDANI, V. L. D.; JACOB-NETO, J. Bactérias diazotróficas e adubação nitrogenada em cultivares de arroz. **Revista Caatinga**, v. 23, n. 4, p. 32-39, 2010.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Inoculation of *Brachiaria spp.* with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 221, p. 125-131. 2016.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36 p. (Embrapa Soja. Documentos, 325).

IRGA. Safras. Boletim de resultados da lavoura de arroz. Safra 2019/2020. Disponível em: <https://irga.rs.gov.br/upload/arquivos/202008/19144808-boletim-de-resultados-da-lavoura-safra-2019-2020-irga.pdf>. Acesso: 20 set. 2020.

JIA, S. H.; GURURANIB, M. G.; CHUNA, S. C Isolation and characterization of plant growth promoting endophyticdiazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. **Microbiological Research**, n. 169, p. 83-98, 2014.

MAGALHÃES JUNIOR, A. M. de; MORAIS, O. P. de; FAGUNDES, P. R. R.; MOURA NETO, F. P.; FRANCO, D. F.; NEVES, P. de C. F.; NUNES, C. D. M.; RANGEL, P. H. N.; PETRINI, J. A.; SEVERO, A. C. M. **BRS Pampa**: cultivar de arroz irrigado de alta produtividade e excelência na qualidade de grãos. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2012. 8 p. (Embrapa Clima Temperado. Comunicado Técnico, 282).

MATTOS, M. L. T.; FAGUNDES, P. R. R.; SCIVITTARO, W. B.; GUIDONI, A. L.; GALARZ, L. A.; FACIO, M. L. P. Seleção de bactérias endofíticas diazotróficas para a fixação de nitrogênio na cultivar de arroz irrigado BRS Pampa. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 30.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 14.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 12.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 9.; SIMPÓSIO SOBRE SELÊNIO NO BRASIL, Maceió. A responsabilidade socioambiental da pesquisa agrícola: Resumos. Viçosa: SBSCS, 2012. p. 1-4.

MATTOS, M. L. T.; FAGUNDES, P. R. R.; SCIVITTARO, W. B.; FACIO, M. L. P. **Fixação biológica de nitrogênio na cultura do arroz irrigado por inundação**: parte II: Interação entre as cultivares BRS Fronteira, BRS Querência e BRS Pampa com bactérias endofíticas diazotróficas. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2015. 24 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 384).

MATTOS, M. L. T.; FAGUNDES, P. R. R.; SANTOS, I. B. dos; ALMEIDA, B. M. Fixação biológica de nitrogênio na cultura do arroz irrigado por inundação: Parte I: bactérias endofíticas diazotróficas isoladas das cultivares BRS 7 "Taim" e BRS Pelota. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 22 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 303).

MATTOS, K. A.; PÁDUA, V. L. M.; ROMEIRO, A.; HALLACK, L. F.; NEVES, B. C.; ULISSES, T. M. U.; BARROS, C. F.; TODESCHINI, A. R.; PREVIATO, J. O.; PREVIATO, L. M. Endophytic colonization of rice (*Oryza sativa* L.) by the diazotrophic bacterium *Burkholderia kururiensis* and its ability to enhance plant growth. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 80, n. 3, p. 477-493, 2008.

KHAN, MD. H. R.; MOHIUDDIN, MD.; RAHMAN, M. Enumeration, isolation and identification of nitrogen-fixing bacterial strains at seedling stage in rhizosphere of rice grown in non-calcareous grey flood. **Journal of the Faculty of Environmental Science and Technology**, v. 13 n. 1, p. 97-101, Mar. 2008.

R CORE TEAM (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso: 22 jan. 2020.

REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 32., 2018, Farroupilha. **Arroz irrigado**: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. Cachoeirinha: Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado, 2018. 205 p.

RODRIGUES, L. da S.; BALDANI, V. L. D.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I. Diversidade de bactérias diazotróficas endofíticas dos gêneros *Herbaspirillum* e *Burkholderia* na cultura do arroz inundado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 275-284, 2006.

SABINO, D. C. C.; FERREIRA, J. S.; GUIMARÃES, S. L.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. Avaliação da capacidade das bactérias *Burkholderia brasilensis* e *Herbaspirillum seropedicae* em promover o crescimento de plântulas de arroz. *Seropédica*: Embrapa Agrobiologia, 2000. 3 p. (Embrapa Agrobiologia. Comunicado Técnico, 45).

SAHARAN, B. S.; NEHRA, V. Plant growth promoting rhizobacteria: A critical review. **Life Science and Medicine Research**, v. 21, p. 1-30, 2011.

SILVA, D. M.; ANTONIOLLI, Z. I.; JACQUES, R. J. S.; VOSS, M. Bactérias diazotróficas nas folhas e colmos de plantas de arroz irrigado (*Oryza sativa*). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 13, n. 2, p. 181-187, 2007.



SCIVITTARO, W. B.; GONÇALVES, D. R. N.; VALE, M. L. C. do; RICORDI, V. G. Perdas de nitrogênio por volatilização de amônia e resposta do arroz irrigado à aplicação de ureia tratada com o inibidor de urease NBPT. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 6, p. 1283-1289, 2010.

SCIVITTARO, W. B.; GOMES, A. da S. **Manejo da água e do nitrogênio em arroz irrigado**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006. (Embrapa Clima Temperado. Comunicado Técnico, 149).

SCIVITTARO, W. B.; MACHADO, M. O. Adubação e calagem para a cultura do arroz irrigado. In: GOMES, A. da S.; MAGALHÃES JÚNIOR, A. M. de (Ed.). **Arroz irrigado no Sul do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 899 p.

SEN, M. A. In bacterial association a factor in nitrogen assimilation by rice plant. *Indian Journal of Agricultural Research*, v. 24, p. 229-231, 1992.

STEINMETZ, S.; INFELD, J. A.; ASSIS, F. N. de; WREGE, M. S.; FERREIRA, J. S. A. **Uso do método de graus-dia para estimar a data de diferenciação da panícula de cultivares de arroz irrigado do Rio Grande do Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. 36 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 126).

TAKAY, T.; KONDO, M.; YANO, M.; YAMAMOTO, T. A quantitative trait locus for chlorophyll content and its association with leaf photosynthesis in rice. **Rice**, v. 3, p. 172-180, 2010.

WREGE, M. S.; CNPF; STEINMETZ, S.; REISSER JUNIOR, C.; CPACT; ALMEIDA, I. R. de **Atlas climático da Região Sul do Brasil: Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul**. 2. ed. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2012. 333 p.

**Embrapa Clima Temperado**

BR 392, Km 78, Caixa Postal 403  
Pelotas, RS - CEP 96010-971  
Fone: (53) 3275-8100  
www.embrapa.br/clima-temperado  
www.embrapa.br/fale-conosco

**1ª edição**

Obra digitalizada (2020)



MINISTÉRIO DA  
AGRICULTURA, PECUÁRIA  
E ABASTECIMENTO



**Comitê Local de Publicações**

Presidente

*Ana Cristina Richter Krolow*

Vice-Presidente

*Walkyria Bueno Scivittaro*

Secretária-Executiva

*Bárbara Chevallier Cosenza*

Membros

*Ana Luiza Barragana Viegas, Fernando*

*Jackson, Marilaine Schaun Pelufê,*

*Sonia Desimon*

Revisão de texto

*Bárbara Chevallier Cosenza*

Normalização bibliográfica

*Marilaine Schaun Pelufê*

Editoração eletrônica

*Fernando Jackson*

Foto da capa

*Maria Laura Turino Mattos*